

中国药典与美国药典中盐酸克林霉素有关物质及含量测定方法的比较

李玮¹, 胡昌勤² (1. 安徽省药品检验所, 安徽 合肥 230061; 2. 中国药品生物制品检定所, 北京 100050)

摘要:目的 比较并讨论美国药典(USP)和中国药典(ChP)中盐酸克林霉素有关物质及含量测定方法。方法 HPLC, 色谱柱: Agilent Analytical Extend C18 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)。USP 中流动相为磷酸盐缓冲液(pH 7.5)-乙腈(55:45), 检测波长 210 nm; ChP 中流动相为磷酸盐缓冲液(pH 3.0)-甲醇(210:300), 检测波长 214 nm。结果 美国药典方法对三个杂质进行了定性, 对杂质限度要求严格, 峰形柱效较理想。中国药典方法对系统要求较低, 适用性试验较易通过。通过调整中国药典方法流动相组成及样品浓度, 发现有杂质未被分离。结论 中国药典方法易于普及, 而美国药典方法分离效果好, 准确度与灵敏度较高。

关键词: 中国药典; 美国药典; 盐酸克林霉素; 有关物质; 含量测定

中图分类号: R978.1; R921 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2003)04-0297-04

Comparison between methods of determination of clindamycin hydrochloride and related substances control in USP and ChP

LI Wei, HU Chang-qin (Anhui Institute for Drug Control, He fei 230061, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE Different HPLC methods of determination of clindamycin hydrochloride and related substances control in USP and ChP were compared and discussed. **METHOD** The HPLC method was used in which an Agilent Analytical Extend C18

(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column, phosphate buffer (pH 7.5) - acetonitrile (55: 45) as mobile phase with detection at 210 nm in USP, phosphate buffer (pH 3.0) - methanol (210: 300) as mobile phase and 214 nm as detection wavelength in ChP. **RESULTS** Three related substances were identified and relatively optimal resolutions, theoretical plates and symmetries were attained by applying the method in USP with demanding chromatographic system. It was noticed that there were impurities unseparated by adjusting concentration of samples and mobile phase in ChP. **CONCLUSION** The method in ChP can be easily promoted in China whereas that in USP is more sensitive and accurate.

KEY WORDS: ChP; USP; Clindamycin Hydrochloride; Related Substances; Determination

克林霉素系半合成抗菌素,对厌氧菌、葡萄球菌、链球菌及肺炎球菌有较好的抗菌作用^[1],其盐酸盐、磷酸盐及棕榈酸酯广泛收载于英美日等国药典。我国 1977 年版药典首载克林霉素盐酸盐,1995 年版改为 HPLC,2000 年版修订为外标法^[2]。中国药典方法操作简便,对系统要求较低,易于普及,而按美国药典 XXIV 版方法^[3]所得分离效果、峰形、柱效等参数较好,精度较高。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

SHIMADZU 液相色谱仪,SPD-10A 紫外检测器,色谱柱为 Agilent Analytical Extend - C18 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 柱。

1.2 试剂

克林霉素对照品,林可霉素对照品由中国药品生物制品检定所提供,盐酸克林霉素样品为检验样品,甲醇、乙腈为色谱纯。

2 实验方法与结果

2.1 色谱条件

美国药典方法:磷酸盐缓冲液(磷酸二氢钾 6.8 g 加水 800 mL 溶解,用 8 mol/L 氢氧化钾溶液调 pH 值至 7.5,再加水到 1000 mL)-乙腈(55: 45),流速 1.0 mL/min,检测波长 210 nm。

中国药典方法:磷酸二氢铵溶液(磷酸二氢铵 2.88 g 加水溶解并稀释至 1000 mL,用 80% 磷酸调节 pH 值至 3.0)-甲醇(210: 300)为流动相,检测波长 214 nm。

2.2 系统适用性试验

美国药典有关物质检查项下:取克林霉素和林可霉素对照品适量,用流动相溶解并稀释成每 1 mL 约含克林霉素 0.1 mg 和林可霉素 0.05 mg 的混合溶液,取 10 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图,克林霉素相对保留时间为 1.0,林可霉素相对保留时间约为 0.4,克林霉素 B 相对保留时间 0.65,克林霉素相对保留时间为 0.8。见图 1。

美国药典含量测定项下:取克林霉素对照品,用流动相溶解并稀释成 1 mg/mL 的溶液,克林霉素 B 与 7-表克林霉素分离度应不小于 2.4,7-表克林霉素与克林霉素主峰分离度应不小于 3.0。理论塔板数按克林霉素计应不低于 4000,拖尾因子应不大于 1.2。重复进样,峰面积 RSD 应不大于 1.0%。对照品图谱见图 2。

中国药典含量测定项下:取对照品溶液(克林霉素对照品用流动相溶解并稀释成每 1 mL 约含克林霉素 2 mg 的溶

液)10 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图,理论塔板数按克林霉素计应不低于 1300,分离度应不小于 1.5,峰面积相对标准偏差应不大于 2.0%。对照品图谱见图 3。

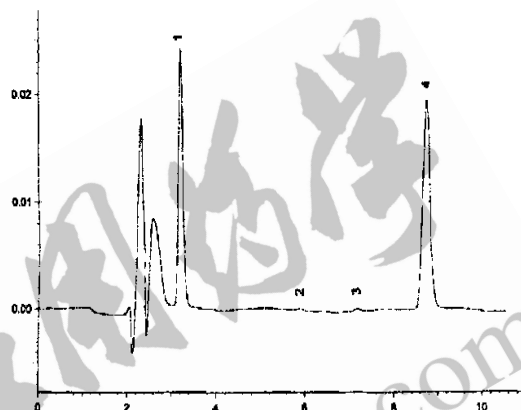


图 1 USP 方法有关物质系统适用性试验图谱

Fig 1 The experimental chromatogram of related substance in USP

1. 林可霉素; 2. 克林霉素 B; 3. 7-表克林霉素; 4. 克林霉素

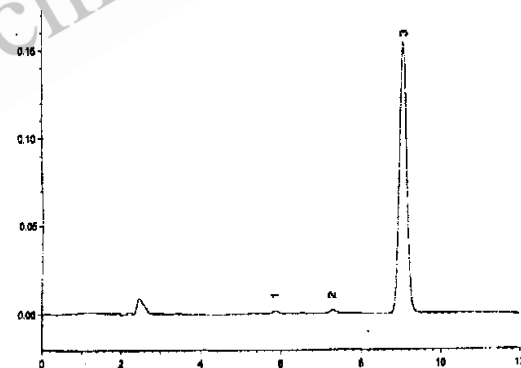


图 2 USP 方法含量测定系统适用性试验图谱(1 mg/mL)

Fig 2 The experimental chromatogram for determination in USP

1. 克林霉素 B; 2. 7-表克林霉素; 3. 克林霉素

2.3 结果

按美国药典系统适应性考察条件试验 6 次,平均理论塔板数 11356,最小分离度 3.89,拖尾因子 1.07;而按中国药典进行系统适应性试验,平均理论塔板数 1622,最小分离度 1.21,拖尾因子 1.59。

三批样品分别按美国药典和中国药典进行含量测定及有关物质检查,结果见表 1。

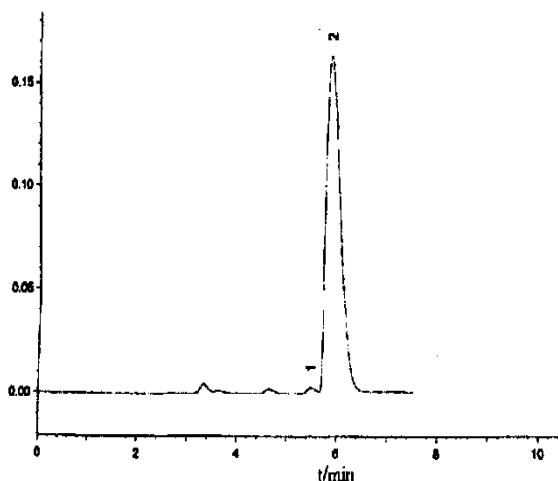


图3 ChP方法含量测定系统适用性试验图谱(2 mg/mL)

Fig 3 The experimental chromatogram for determination in Chp

1. 7-表克林霉素; 2. 克林霉素

表1 盐酸克林霉素 USP 与 ChP 方法含量测定与有关物质检查结果

Tab 1 Determination results for clindamycin hydrochloride and related substances between USP and ChP

批号	USP 含量 (%)	ChP 含量 (%)	USP 有关物质 (%)	ChP 有关物质 (%)
07	90.2	91.4	1.8	1.1
10	90.8	91.9	1.5	0.7
24	90.8	92.6	1.7	0.9

3 讨论

3.1 美国药典方法测定盐酸克林霉素含量及有关物质,对系统适用性试验要求严格,对已知杂质用相对保留时间进行定性,并对主要杂质分别进行了限度控制(记录主峰6倍保留时间,含林可霉素按林可霉素对照品计算,其他杂质按克林霉素对照品计算,7-表克林霉素应不大于4.0%,克林霉素B应不大于2.0%,其他单个杂质应不大于1.0,杂质总量应不大于6.0%),有关物质检查限度严格。而中国药典方法对系统要求较低,适用性试验的要求较易达到,有关物质检查用自身对照法,且仅规定杂质总量不得过8.0%。但中国药典规定含量限度(83.0%)比美国药典严格(80.0%)。

3.2 用同一色谱柱对两种方法进行比较,美国药典方法中克林霉素的保留较强,与其他杂质分离较完全,柱效也相对较高,而中国药典方法,克林霉素主峰拖尾,且与杂质峰分离度不高,尤其在低浓度(10 mg/mL)条件下,主峰保留时间提前,与杂质峰重叠,故测定同一样品含量所得结果偏高,而有关物质总量偏低。

3.3 如把中国药典方法流动相中有机相比比例调低,主峰与杂质峰能够分离得更完全,但此时主峰拖尾严重,柱效也达不到要求。

3.4 中国药典方法有关物质检查,样品浓度为10 mg/mL,测出3个杂质,见图4。比较图3,可见主峰前有一杂质被覆盖。通过试验,分别调整流动相中磷酸二氢铵溶液的pH值

中国现代应用药学杂志 2003 年 8 月第 20 卷第 4 期

为2.7,3.0,3.4,4.2,5.2,6.2,主峰保留时间从5.2 min延至63.3 min; pH3.4时色谱峰对称因子最为理想;理论塔板数在pH6.2时最高,pH3.4时其次。三个主要杂质及主峰的容量因子与pH的关系见图5。由此看出,pH值为3.4时,主峰峰形,柱效,与杂质分离度均较好,保留时间也较合适,共分离出5个杂质。据有关报道,盐酸克林霉素样品中可能含有5种已知杂质:林可霉素,林可霉素B,7-表林可霉素,克林霉素B,7-表克林霉素^[4]。而按美国药典方法可测得8个杂质,见图6。

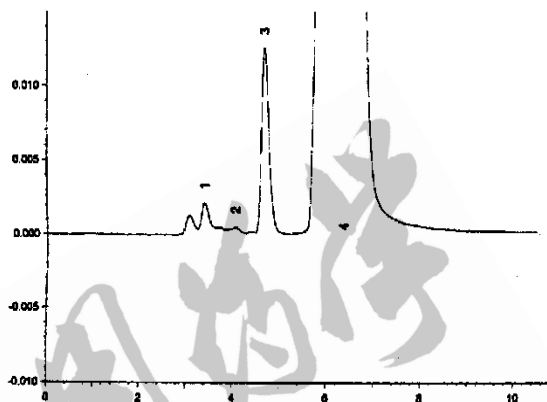


图4 ChP方法有关物质样品图谱(10mg/mL)

Fig 4 Related substances in the chromatogram with ChP method

1. 林可霉素, 2. 未知杂质 A, 3. 克林霉素 B, 4. 克林霉素

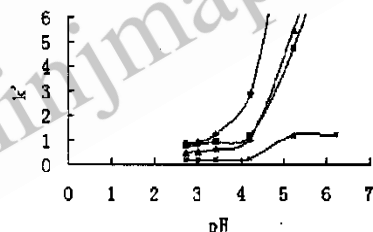


图5 图4中三个杂质及主成分的容量因子与磷酸二氢铵溶液pH值的关系

Fig 5 The relationship between the capacity factors of the main constituent and three impurities and the pH value of acid ammonia phosphate

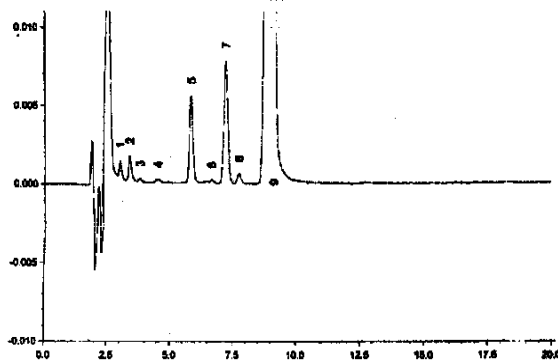


图6 USP方法有关物质样品图谱(5 mg/mL)

Fig 6 Related substances in the chromatogram with USP method

2. 林可霉素, 5. 克林霉素 B, 7. 7-表克林霉素, 9. 克林霉素, 1, 3, 4, 6, 8

为未知杂质

参考文献

- [1] 吴永乐,王宇倩,吴卫红,等.克林霉素体外抗菌活性研究[J].
中国抗生素杂志,1996,21:427.
- [2] 中国药典2000年版(二部)[S],2000:606.

[3] USP[S]. XXIV.

[4] Orwa JA, Vandenbempt K, Depuydt S, *et al*. Liquid chromatography method for separation of clindamycin from related substances[J]. J Pharm Biomed Anal, 1999,20(5):745.

收稿日期:2002-03-04